

免疫传感器在粮油中真菌毒素快速检测的应用研究进展

王瑞鑫¹, 张 微², 李书国¹

(1. 河北科技大学 生工学院, 河北 石家庄 050018;

2. 河北省食品检验研究院, 河北 石家庄 050031)

摘要:真菌毒素污染是造成食品安全问题的主要因素之一。目前,常用的真菌毒素检测方法主要有薄层层析法、高效液相色谱法、超临界液相色谱法、气相色谱—质谱联用法、免疫传感器法、试剂盒法、速测卡法等,其中电化学免疫传感器法具有快速、灵敏、特异性强等优势,在真菌毒素快速、准确、现场化或在线检测方面具有广阔的发展前景。综述了电化学免疫传感器的原理、分类、抗原/抗体固定方法,简述了黄曲霉毒素免疫传感器、赭曲霉毒素免疫传感器、伏马毒素免疫传感器、脱氧雪腐镰刀菌烯醇免疫传感器和玉米赤霉烯酮免疫传感器在粮油食真菌毒素快速检测中的应用,分析了存在的问题并提出了有关建议。

关键词:真菌毒素;食品安全;免疫传感器;粮油食品;快速检测

中图分类号:TS 207.3 **文献标识码:**A **文章编号:**1007-7561(2015)04-0083-05

Research progress on application of immunosensor in determination of mycotoxins in cereals and oils

WANG Rui-xin¹, ZHANG Wei², LI Shu-guo¹

(1. College of Biology Science and Engineering, Hebei University of Science and Technology, Shijiazhuang Hebei 050018; 2. Hebei Food Inspection and Research Institute, Shijiazhuang Hebei 050031)

Abstract: The mycotoxins pollution is one of the main factors that induce food safety problems. At present, the popular methods for determination of mycotoxins in cereals and oils are mainly thin-layer chromatography, high performance liquid chromatography, supercritical fluid chromatography, gas chromatography-mass spectrometry, immunosensor, ELISA kits and rapid test card etc. Electrochemical immunosensor has great potentialities in rapid detection, online detection and on-site determination for mycotoxins in foods because of the advantages such as rapid, sensitive and specificity. The reaction mechanism, classification, antigen/antibody immobilization of electrochemical immunosensor were summarized, the applications of aflatoxin immunosensors, ochratoxin immunosensors, fumonisin immunosensors, deoxynivalenol immunosensors and zearalenone immunosensors in determination for mycotoxins in cereals and oils were briefly described. The present problems were analyzed and suggestions were given in the end.

Key words: mycotoxins; food safety; immunosensor; cereal and oil food; rapid determination

真菌毒素(Mycotoxins)是一类由真菌在生长繁殖过程中产生的有毒次级代谢产物^[1]。据联合国粮农组织统计,每年真菌毒素污染的农产品约占世界总量的25%,由此造成的损失达几百亿美元^[2]。目前已发现的真菌毒素有300多种,如黄曲霉毒素、

赭曲霉毒素、玉米赤霉烯酮、脱氧雪腐镰刀菌烯醇、伏马毒素等。真菌毒素具有致畸、致癌和致突变等危害,对人类和动物的健康构成严重威胁。真菌毒素的污染范围广,包括大部分的农产品、谷物、食品和饲料等。当前食品安全问题是人们的关注重点,降低真菌毒素危害是食品工业要解决的重要安全问题之一,降低其危害主要从三方面入手,一是在食品产业链的各个环节控制真菌污染,如粮食、饲料干燥、贮存条件控制、安全抑菌、抗菌剂的研发与应用;

收稿日期:2015-02-06

基金项目:国家自然科学基金资助项目(20876165);河北省食品药品安全科技项目计划(PT2014027)

作者简介:王瑞鑫,1992年出生,男,硕士研究生。

通讯作者:李书国,1969年出生,男,教授,工学博士。

二是食品中真菌毒素的污染的去,如物理方法、化学方法、生物方法等;三是终端检测严格控制污染真菌毒素的食品进入市场,从而保障食品安全。

目前,真菌毒素的检测方法主要有高效液相色谱法、超临界液相色谱法、气相色谱—质谱联用法、液相色谱—质谱联用法等,这些方法技术成熟、灵敏度高、精确度高,但是设备昂贵、操作步骤繁琐,检测用时长,成本高,无法实现速测和现场检测^[3];而ELISA试剂盒、速测卡等虽有利于现场快速检测,但检测精确度不足,可能会出现假阴性问题;电化学免疫传感器因对目标物的高度特异性、灵敏性和稳定性,具有检测速度快、灵敏度高、操作简便等优势,在食品分析、医学研究和环境监控等领域均有良好应用前景^[4]。以下对电化学免疫传感器的原理、分类、抗原/抗体的固定方法,以及在真菌毒素检测中的应用进行阐述。

1 电化学免疫传感器概述

1.1 电化学免疫传感器的原理

电化学免疫传感器是基于抗原抗体间特异性反应的集成元件,相对于其它生物传感器,具有更为优良的专一性和选择性。检测原理是把免疫物质(抗原/抗体)固定在支持物表面作为识别元件,识别对应的抗体(或抗原)并形成稳定复合物,通过换能器将实验中免疫反应的相关变化转换为电信号,再通过信号处理器对电信号进行处理、显示或记录,最终对目标物进行检测^[5],其工作原理如图1。

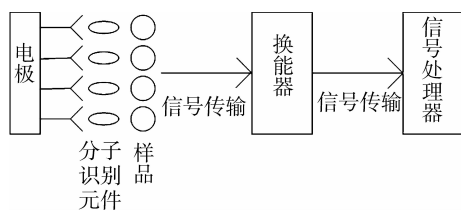


图1 电化学免疫传感器的原理示意图

1.2 电化学免疫传感器的分类

电化学免疫传感器通常有两种分类方式,一种是根据测量信号的不同,可分为电位型、电容型、电导型和电流型;另一种是依据是免疫反应进行过程中标记物的有无,可分为标记型和非标记型电化学免疫传感器^[6]。电位型免疫传感器的研究始于上世纪70年代,根据实验过程中电位的变化量与目标物在特定浓度范围内存在一定关系,通过测量电位变化对免疫反应进行分析。可对抗原或抗体进行直接或者间接检测,但存在非特异性吸附和干扰因素等问题,限制了其在实际检测中的应用。电容型免疫传感器是近些年来出现的新型传感器,主要基于双电层理论,可通过物质的吸附和表面电荷的改变等引起双电层结构产生可检测的信号,具有灵敏度

高、集成简便和无需使用标记物等优点,应用比电位型更广泛;电导型免疫传感器利用免疫反应引起溶液或薄膜的电导变化对目标物进行分析,但易受到待测样品离子强度与缓冲液等的影响,发展较缓慢;电流型免疫传感器是一种将免疫学分析技术和电化学检测方法相结合的产物,在这四类中应用最广泛。常用标记物有酶和电活性物质两类,由于酶具有化学放大作用,因此在实际应用中多采用酶作标记物,常用酶有碱性磷酸酶、辣根过氧化物酶、乳酸脱氢酶、尿素水解酶等^[7]。主要修饰原理有竞争法和夹心法两种,竞争法是用酶标记的抗原与样品中的抗原相互竞争,以结合电极表面的抗体,催化氧化还原反应产生电活性物质而引起电流变化,达到测定样品中的抗原浓度的目的;夹心法是在样品中的抗原与电极表面的抗体结合后,添加酶标记的抗体与样品中的抗原结合,形成夹心结构来催化氧化还原反应使电流发生变化,从而达到对目标物的测定^[8]。

1.3 抗原/抗体的固定方法

在电化学免疫传感器的制备过程中,抗原/抗体的固定是最为关键的步骤之一。常用的抗原/抗体固定方法有包埋法、物理吸附法、共价键合法和自组装膜法等。包埋法是将抗原/抗体包裹在三维网状结构中,其敏感膜的几何形状与孔径可以控制,因此可应用于高浓度生物组分的固定,此法的制备条件温和,有利于保持抗原/抗体的生物活性;物理吸附法是利用抗原/抗体溶液浸泡或者涂覆于电极的表面,在自然条件下等待溶液挥发即制得,此法能够有效保持抗原/抗体活性,同时所制得的电极性能比较稳定,应用较为广泛;共价键合法是一种化学修饰方法,是将抗原/抗体经共价键作用固定在电极表面,此法的优势在于抗原/抗体结合牢固,稳定性好,但存在操作复杂、生物活性较差等问题;自组装膜法是将抗原/抗体经静电作用或化学键自发吸附在电极表面,形成稳定的有机分子膜,此法的稳定性和化学结构优于其它三种方法,而且制备物性质多样,能较好的保持抗原/抗体的生物活性^[9]。

2 电化学免疫传感器在真菌毒素检测中的应用

2.1 黄曲霉毒素免疫传感器

黄曲霉毒素(Aflatoxin, AF)是由黄曲霉(*Aspergillus flavus*)和寄生曲霉(*Aspergillus parasiticus*)等真菌次级代谢产物,通常存在于花生和玉米等粮食和饲料中^[10]。其中以黄曲霉毒素B₁的污染最严重,我国对谷物及其制品中AFB₁的限量标准为5.0~20.0 μg/kg,花生及其制品为20 μg/kg^[11]。黄曲霉毒素免疫传感器的研制有两个关键步骤,一

是将抗原/抗体间免疫反应信号转换为电化学信号,并能对其放大,二是在保证抗原/抗体生物活性的条件下,增加免疫传感器表面的生物活性物质固载量。近年来,研究人员将酶(主要是碱性磷酸酶、辣根过氧化物酶、葡萄糖氧化酶等)标记抗原/抗体,同时运用纳米材料(主要是纳米金、羧基化碳纳米管、石墨烯、磁性纳米颗粒等)、离子液体和导电聚合物等技术修饰电极来构建 AF 免疫传感器。主要是利用酶易于抗原/抗体结合,以及纳米材料在保证抗原/抗体生物活性的同时,增强生物活性物质的固载量和电化学响应信号,有效提升了 AF 免疫传感器的灵敏度、重复稳定性和使用寿命。现有检测黄曲霉毒素 B₁ 的报道居多,结果较为理想,但多数免疫传感器尚未发展到商业化应用阶段,需要研发人员继续努力。

Yun Tan 等^[12] 构建了一种酶催化银沉积扩增信号的 AFB₁ 免疫传感器,在免疫反应过程中,抗体上的标记物碱性磷酸酶催化抗坏血酸-2-磷酸盐成为抗坏血酸,同时银离子被还原成银沉积于金电极表面,再经线性扫描伏安法(LSV)对电极表面沉积的银进行定量,间接检测 AFB₁,该免疫传感器结合酶催化沉积放大信号,思路新颖。周琳婷等^[13] 研究了一种石墨烯/导电高分子/离子液体修饰的 AFB₁ 阻抗免疫传感器,当 AFB₁ 在 $3.2 \times 10^{-15} \sim 3.2 \times 10^{-13}$ mol/L 时,交流阻抗与浓度呈线性关系($R^2 = 0.994$),检测限良好,达 1.1×10^{-15} mol/L,离子液体的优良生物亲和性提升了电极表面抗体的稳定性,避免了采用滴涂法固定抗体所构建传感器的不稳定性。干宁等^[14] 研究了一种检测小麦粉中 AFB₁ 安培免疫传感器(SPCEChit/FePc/Au/HRP-Ab-AFB₁),FePc 可催化 H₂O₂ 的还原,增强电信号,该传感器所需温育时间短(8 min),为 AFB₁ 的现场检测提供可能性。孙秀兰等^[15] 采用正硅酸乙酯的硅溶胶固定 anti-AFB₁ 制备了一种非标记 AFB₁ 阻抗免疫传感器,该传感器检测限(0.1 μg/L)不太理想,但简化了制备步骤。Charlie 等^[16] 通过酶联免疫吸附法(ELISA)将 3,3',5',5'-四甲基二氢氯化物联苯胺(TMB)/H₂O₂ 修饰到丝网印刷电极表面,以辣根过氧化物酶(HRP)标记抗体,检测限为 39 ng/L,动态线性检测范围达 1 000 ng/L,该传感器研制中应用了丝网印刷电极,或为以后免疫传感器的工业化发展提供了一种新的思路。在上述文献中,Yun Tan 等研制的免疫传感器结合了酶催化沉积信号放大法和电化学检测的高度灵敏性,检测下限较低、成本低廉,表明酶催化沉积结合电化学方法检测的信号放大效果理想。周琳婷等在研制中添加石墨烯、纳米金和离子液体(1,3-二丁基咪唑基六氟磷酸盐),显著提升了修饰层的导电活性和生物活性

物质的固载量,所研制的传感器灵敏度和稳定性良好。Charlie 等研制的标记型传感器的检测限较低,且以丝网印刷电极为工作电极,因丝网印刷电极设计灵活,成本低,可批量制作,或许是以后免疫传感器工业化发展的一种好选择。

2.2 赭曲霉毒素免疫传感器

赭曲霉毒素(Ochratoxin, OT)是由赭色曲霉属和青霉属的几种真菌在自身生长代谢过程中产生的毒素^[17]。OT 污染较广,主要包括谷物及其制品、豆类、坚果、油脂、啤酒等^[18]。赭曲霉毒素免疫传感器可分为标记型免疫传感器和无标记型免疫传感器两类。标记型 OT 免疫传感器的研制主要是应用酶(碱性磷酸酶、辣根过氧化物酶)、纳米材料(纳米银、纳米氧化锌等)标记抗原/抗体,在保证抗体生物活性的条件下增加生物活性物质固载量和增强电化学信号,提高 OT 免疫传感器的灵敏度、稳定性和使用寿命,但研制过程较为繁琐。近年来,无标记型 OT 免疫传感器研制相对简便,逐渐受到国内外研究学者们的重视,但在检测灵敏度方面不甚理想,为了满足日益严格的真菌毒素限量标准,无标记型 OT 免疫传感器需要进一步研究改进,由于赭曲霉毒素 A 的污染较多,因此报道的文献多是研制关于 OTA 检测的免疫传感器。

Abd-Elgawad 等^[19] 构建了一种无标记电化学阻抗型 OTA 免疫传感器,该传感器由两步构成,首先是经电化学还原生成 4-羧基苯重氮盐(4-CPDS)在酸性溶液中得到稳定的对羧苯基(4-CP)单层,然后 anti-OTA 经碳化二亚胺(EDC)活化并固定于金电极表面,采用循环伏安法(CV)和电化学阻抗谱法(EIS)进行测定,应用在 OTA 浓度为 1~20 ng/mL 时电子转移电阻增加值 ΔR_{et} 与 OTA 浓度呈线性关系,对 OTA 进行检测,方法非常新颖,可尝试对其进一步小型化和批量生产。李姣^[20] 研制了一种酶催化银沉积扩增信号的超灵敏 OTA 免疫传感器,在免疫反应时碱性磷酸酯酶催化磷酸抗坏血酸酯(AAP)水解成抗坏血酸,生成的抗坏血酸使银离子还原成银,沉积于电极表面,再经线性扫描伏安法(LSV)对银进行定量,间接检测 OTA,检测限达 7.8×10^{-4} ng/mL。Anees 等^[21] 设计的免疫电极(BSA/r-IgGs/Nano-ZnO/ITO)通过将纳米氧化锌 ZnO 薄膜已沉积到锡锡氧化物玻璃板上,再将免疫球蛋白抗体共固定化(r-iggs)与牛血清白蛋白固定到其表面,该传感器的检出限为 0.006 nmol/dm³,灵敏度为 189 Ω/nmol/dm³·cm⁻²,该法思路独树一帜,可尝试作为其它真菌毒素的检测方法。在上述三篇报道中,Abd-Elgawad 等研制的阻抗型免疫传感器比较新颖,检测限较低,可尝试进行批量化生产,进一步监控赭曲霉毒素对于粮食的污染。李姣

研制免疫传感器结合了酶催化银沉积反应以及银的连续放大分析信号,实现了双重优化效果,为 OTA 免疫传感器进一步的实际应用提供了思路。Anees 等采用纳米氧化锌薄膜沉积在锡锡氧化物电极,实验结果理想,对于其它的真菌毒素也可尝试用此法进行检测。

2.3 伏马毒素免疫传感器

伏马毒素(Fumonisin, FB)是由串珠镰刀菌、轮状镰刀菌、多育镰刀菌等产生的毒素。主要有 FB₁ (毒性最强、污染最重)、FB₂、FB₃等 11 种^[22]。伏马毒素存在范围比较广泛,主要存在于玉米及其制品中,少量存在于在大米、面条、调味品、高粱、啤酒中。免疫传感器具有快速、灵敏等优势,为 FB 的快速灵敏检测提供了思路。伏马菌素免疫传感器是 FB 与 anti-FB 间免疫反应进行表征的设备,选择性和灵敏度较高。FB 免疫传感器的研制比较少见,但对于 FB 引起的食品安全问题不可忽视。就 FB 免疫传感器研制而言,可尝试用酶(碱性磷酸酶、辣根过氧化酶等)作为电化学免疫分析过程中生物活性物质的标记物,综合应用纳米材料(纳米金、纳米氧化锌、羧基化碳纳米管、石墨烯等)、离子液体技术和导电聚合物技术构建 FB 免疫传感器,进行探索后研制出满足限量标准的免疫传感器,有效降低伏马菌素对于人和动物的危害。

如今有关检测伏马菌素的免疫传感器的报道较少,Kadir 等^[23]开发了一种检测 FB₁ 和 FB₂ 的丝网印刷金电极,该免疫传感器采用单克隆抗体固定在电极表面,由 TMB 通过计时安培分析法对电极表面发生的反应进行监控,对于 FB₁ 和 FB₂ 的检测限为 5 ng/mL,动态检测范围为 1 ~ 1 000 ng/mL。该法基于丝网印刷金电极,且可对 FB₁ 和 FB₂ 进行同时检测,检测限可满足实际应用。在以后的研究中,可进一步加强研制用于检测伏马菌素电化学免疫传感器,更好地控制由伏马菌素引发的食品安全问题。

2.4 脱氧雪腐镰刀菌烯醇免疫传感器

脱氧雪腐镰刀菌烯醇(deoxynivalenol, DON)是 B 型的单端孢霉烯族毒素,是禾谷镰刀菌产生的最主要的真菌毒素。脱氧雪腐镰刀菌烯醇主要污染小麦、大麦、玉米、燕麦等农产品^[24]。从现有的脱氧雪腐镰刀菌烯醇免疫传感器报道来看,应用免疫磁珠对其进行修饰,效果良好。就以后的研制而言,可应用其它思路(酶催化银沉积连续扩增、基于纳米氧化锌沉积到锡锡氧化物平台等)构建 DON 免疫传感器,不断满足日益严格的限量标准,并有效监控脱氧雪腐镰刀菌烯醇的污染,进而保障食品安全。

Daniela 等^[25]运用免疫磁珠结合 8 个磁化丝网印刷电极(8-mScPEs)作为电化学传感器,对于谷

物和谷物制品的样品中呕吐毒素(DON)进行检测,该传感器采用新型的抗 DON 的 Fab 片段。在实验室条件下,通过对于小麦,谷类早餐和婴儿食品的样品进行检测,得出谷类早餐和婴儿食品的可重复性分别为 9%~24% 和 10%~33%,谷类早餐和婴儿食品的重复性数据分别为 82%~110% 和 97%~108%。通过与空白对照进行分析,该方法可作为检测此类产品中 DON 的方法。该法应用新型的修饰材料(免疫磁珠)对于磁化丝网印刷电极进行修饰,非常新颖,为以后的探索提供了参考。其它的文獻报道较少,因此在以后的研究中,可对其进行探索。

2.5 玉米赤霉烯酮免疫传感器

玉米赤霉烯酮(zearalenon, ZEN)又称 F-2 毒素,是一种毒性相对较低的真菌毒素,主要由禾谷镰刀菌、大刀镰刀菌等真菌产生,主要存在于玉米、小麦、大麦、高粱等粮食作物中,对于玉米的污染最为严重^[26]。玉米赤霉烯酮免疫传感器可分为标记型免疫传感器和无标记型免疫传感器两类。标记型 ZEN 免疫传感器的研制主要是应用酶(辣根过氧化酶等)、纳米材料(羧基化碳纳米管等)标记抗原/抗体,在保证抗体生物活性的条件下增加电极表面的生物活性物质固载量和增强电化学信号,提高 ZEN 免疫传感器的灵敏度和检测稳定性,但研制较为繁琐。无标记型 ZEN 免疫传感器研制相对简便,显示出在真菌毒素检测方面的巨大潜力,也逐渐受到国内外研究人员的重视,但在检测灵敏度方面不太理想。无标记型 ZEN 免疫传感器仍需要进一步研究改进。

Lei Liu 等^[27]研制了一种新型无标记电化学免疫传感器用于 ZEN 的超灵敏检测,对实验条件优化后,检测限为 1.7 pg/mL,线性范围为 0.005 ~ 15 ng/mL。Nancy 等^[28]采用多壁碳纳米管修饰玻碳电极,再与连续流动装置结合,用于 ZEN 的检测,检测时间为 15 min,结果表明其灵敏度和检测限均优于 ELISA 法。Mirian Hervás 等^[29]开发了一种用于检测婴儿食品中 ZEN 的免疫传感器,检测限为 0.007 μg/L,重现性良好(RSD = 6%)。Lei Liu 等研制的免疫传感器主要由孔碳(MC)和特定纳米材料对电极进行修饰,再经 Ag-NH₂ 键和 Pt-NH₂ 键把 anti-ZEA 固定在电极表面,检测限低,灵敏度好。Nancy 等研制的传感器检测耗时短,而且灵敏度和检测限均优于 ELISA 法,可为以后相关真菌毒素的检测提供参考。Mirian Hervás 等研制的免疫传感器主要由免疫磁珠和一次性碳丝网印刷电极(SPEs)构成,一次检测使用一个 SPEs 即可,为以后电化学免疫传感器的工业化提供参考,但仍需不断研究。

3 结论和建议

电化学免疫传感器将电化学分析技术的快速、

灵敏、精度高的特点与免疫学的高特异性相结合,具有检测快速、灵敏度好、成本低廉、制作简单等优势,在食品安全快速、准确检测方面具有较大的潜力。但是,电化学免疫传感器需要在多通道免疫传感器的制备及稳定性研究、信号放大与处理、工业化、规模化制备等方面需要进一步加强研究开发。

3.1 多通道真菌毒素免疫传感器的研发

现有的免疫传感器大多是对一种真菌毒素进行检测,今后应该通过在电极表面固定化不同真菌毒素抗体,运用新型功能材料研制多通道免疫传感器,以实现多种真菌毒素的同时检测。

3.2 信号放大型真菌毒素免疫传感器的技术的研究

随着纳米材料如纳米金、多壁碳纳米管、石墨烯技术的进步以及各种新型固定化材料的不断开发,可以优化抗原/抗体的固定工艺技术,增加电极表面的生物活性物质固载量,减小抗原/抗体生物活性的损失,可提高免疫传感器的稳定性,纳米材料可加快免疫电化学反应中的电子传递速度,大大增大免疫传感器的免疫响应信号,提高其检测灵敏度。

3.3 电化学免疫传感器的工业化、标准化和商品化

随着微电极、丝网印刷电极等加工技术的快速发展,为电化学免疫传感器工业化、规模化制造提供了技术基础,免疫传感器将为食品中真菌毒素的快速、准确、现场检测提供一条新的途径,可大大减少真菌毒素对食品安全的影响。

参考文献:

[1] 陈丽星. 真菌毒素研究进展[J]. 河北工业科技, 2006, 23(2): 124-126.

[2] 王蓉珍, 赵笑天, 林勤保, 等. 真菌毒素的分析技术研究进展[J]. 中国卫生检验杂志, 2010, 20(11): 3071-3076.

[3] 丁建英. 电化学酶联免疫传感器在农畜产品安全检测中的应用研究[J]. 畜牧与饲料科学, 2009, 30(9): 61-62.

[4] 刘继超, 姜铁民, 陈历俊, 等. 电化学免疫传感器在食品安全检测中的研究进展[J]. 中国食品添加剂, 2011(1): 216-222.

[5] 韩鹏飞, 李洪军, 邹忠义. 免疫传感器在食品真菌毒素检测中的应用[J]. 食品工业科技, 2011(4): 430-433.

[6] 汤俊琪, 庞广昌, 王景川. 电化学免疫传感器在食品安全检测中的应用进展[J]. 理化检验-化学分册, 2011, 47(8): 986-990.

[7] 钟桐生, 刘国东, 沈国励, 等. 电化学免疫传感器研究进展[J]. 化学传感器, 2002, 22(3): 8-10.

[8] 陈慧连, 陈伟锐. 电化学免疫传感器的发展概述[J]. 广州化工, 2013, 41(11): 56-58.

[9] 刘艳, 傅英姿, 牛卫芬. 电化学免疫传感器中生物活性物质的固定方法研究进展[J]. 河南师范大学学报(自然科学版), 2011, 39(4): 91-94.

[10] 张晓飞, 岳延涛, 杨美华, 等. 色谱-质谱联用技术在真菌毒素检测中的研究进展[J]. 贵州农业科学, 2009, 37(12): 109-114.

[11] 刘莹, 王珮玥, 刘雪平, 等. 我国现行食品与饲料中真菌毒素限量及检测标准概述[J]. 中国酿造, 2014, 33(7): 10-19.

[12] Yun Tan, Xia Chu, Guo-Li Shen, et al. A signal-amplified electrochemical immunosensor for aflatoxin B1 determination in rice [J]. Analytical Biochemistry, 2009, 387: 82-86.

[13] 周琳婷, 李在均, 方银军. 石墨烯/导电高分子/离子液体修饰的黄曲霉毒素 B1 免疫传感器的制备及应用[J]. 分析化学, 2012, 40(11): 1635-1641.

[14] 干宁, 谢东华, 李榕生, 等. 小麦粉中黄曲霉毒素 B1 现场检测用纳米修饰传感器[J]. 中国粮油学报, 2009, 24(12): 124-128.

[15] 孙秀兰, 汪忠云, 方银军, 等. 溶胶凝胶法固定抗体制备黄曲霉毒素免疫传感器[J]. 分析化学, 2010, 38(2): 245-248.

[16] Charlie O Parker, Ibtisam E Tothill. Development of an electrochemical immunosensor for aflatoxin M1 in milk with focus on matrix interference [J]. Biosensors and Bioelectronics, 2009, 24: 2452-2457.

[17] 刘峰良, 赵志辉, 谢晶. 谷物中真菌毒素的研究进展[J]. 广东农业科学, 2012, 19: 115-119.

[18] 涂春蓉, 王文浩, 董晓娟, 等. 赭曲霉毒素 A 快速检测技术研究进展[J]. 粮油加工, 2014, 5: 75-79.

[19] Abd-Elgawad Radia, Xavier Munoz-Berbel, Vasilescu Latesc et al. Label-free impedimetric immunosensor for sensitive detection of ochratoxin A [J]. Biosensors and Bioelectronics, 2009, 24: 1888-1892.

[20] 李姣. 赭曲霉毒素 A 的电化学免疫传感器研究[D]. 长沙: 湖南大学, 2011: 13-19.

[21] Anees A Ansari, Ajeet Kaushik, Pratima R Solanki, et al. Nanostructured zinc oxide platform for mycotoxin detection[J]. Bioelectrochemistry, 2010, 77: 75-81.

[22] 张岳平. 镰刀菌真菌毒素产生与调控机制研究进展[J]. 生命科学, 2011, 23(3): 311-316.

[23] Juan C Vidal, Laura Bonel, Alba Ezquerro, et al. Electrochemical affinity biosensors for detection of mycotoxins: A review [J]. Biosensors and Bioelectronics, 2013, 49: 146-158.

[24] 苏福荣, 王松雪, 孙辉, 等. 国内外粮食中真菌毒素限量标准制定的现状与分析[J]. 粮油食品科技, 2007, 15(6): 57-59.

[25] Daniela Romanazzo, Francesco Ricci, Giulia Volpe, et al. Development of a recombinant Fab-fragment based electrochemical immunosensor for deoxynivalenol detection in food samples [J]. Biosensors and Bioelectronics, 2010, 25: 2615-2621.

[26] 李峻媛, 万丽, 杨美华. 真菌毒素限量标准及其在中药中的研究进展[J]. 中草药, 2011, 42(3): 602-609.

[27] Lei Liu, Yingjun Chao, Wei Cao, et al. A label-free amperometric immunosensor for detection of zearalenone based on trimetallic Au-core/AgPt-shell nanorattles and mesoporous carbon [J]. Analytica Chimica Acta, 2014, 847: 29-36.

[28] Nancy H S, Ammida, Laura M, et al. Electrochemical immunosensor for determination of aflatoxin B1 in barley [J]. Biochemical Engineering Journal, 2010, 51(1-2): 7-13.

[29] Mirian Hervás, Miguel Ángel López, Alberto Escarpa. Simplified calibration and analysis on screen-printed disposable platforms for electrochemical magnetic bead-based immunosensing of zearalenone in baby food samples [J]. Biosensors and Bioelectronics, 2010, 25: 1755-1760. 完